



TITLE:

# 電子線大量照射神経片による末梢 神経同種移植：その組織学的研究

AUTHOR(S):

中島, 正二

---

CITATION:

中島, 正二. 電子線大量照射神経片による末梢神経同種移植：その組織学的研究. 日本外科宝函 1966, 35(6): 1026-1053

ISSUE DATE:

1966-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/207342>

RIGHT:

## 電子線大量照射神経片による末梢神経同種移植

——その組織学的研究——

京都大学医学部脳神経外科学教室（主任：半田 肇教授）

中 島 正 二

〔原稿受付：昭和41年9月2日〕

Successful Nerve Homotransplantation Using High-Energy  
Electron Irradiated Graft

by

SYOJI NAKAJIMA

Department of Neurosurgery, Kyoto Univ. Medical School

(Director : Prof. Dr. HAJIME HANDA)

In this experiment transplantability of long nerve homograft was studied for the purpose of bridging over a large gap of nerve.

In 1964 LEONARD MARMOR reported that an inflammatory response could be effectively prevented by use of nerve homografts irradiated prior to implantation.

High-energy electron irradiation of the graft was studied in this experiment, and moreover, various types of immunosuppressive treatments such as boiling, alcohol- or formalin-fixation of the graft, and local application of corticosteroids were comparatively studied. General administration of corticosteroids and antimetabolites was also investigated in rats.

Immunosuppressive effects were histologically evaluated especially on the standpoint of doses of high-energy electron irradiation.

Irradiated nerve graft was homotransplanted into the gap of peroneal nerve in dog using tubulation technique with irradiated arterial tube. Histological examinations were performed periodically with regular intervals after operation.

## Experiment I

In the first place, host-versus-graft reactions were investigated in rats.

Nerve grafts taken from Sprague-Dawley rats were transplanted subcutaneously into Wistar rats after treated variously to reduce the reactions as follows.

Histological examinations of the grafts and surrounding tissues were performed 2, 4 and 6 weeks after the transplantation.

## Group 1

As the contrast, non-treated fresh homografts were transplanted and examined. They provoked severe immune responses. Two weeks after implantation, maximum reactions were seen within and about the grafts. Grafts were destroyed by invasion of inflammatory cells and proliferation of fibrous tissues. Six weeks after operation, they were almost fully

replaced by fibrous tissue of host origin.

#### Group 2

Sciatic and brachial nerve grafts were removed under sterile condition from Sprague-Dawley rats and immediately placed in glass ampule, and stored at  $-25$  to  $-30^{\circ}\text{C}$  in deep freezer for 24 hrs. until they were irradiated with highenergy electron from a VAN DE GRAAFF Generator. These nerve grafts were implanted into Wistar rats subcutaneously.

Minimum inflammatory reactions were seen within and about the irradiated grafts, and the internal architectures were well maintained longer than six weeks after implantation. Characteristic findings of the reactions were reduction in cellular infiltration and fibroblastic invasion within grafts. It seems that the reductive effect of the irradiation on the reaction of the graft is due to the cellular death and specific fixation of the graft.

#### Group 3

Nerve grafts fixed in alcohol or formalin, or boiled in water provoked less foreign body reactions in the host compared to the control group. Moderate cellular reactions, however, were found in both the grafts and adjacent tissues. Fibroblasts appeared in later stage.

#### Group 4

In early stage, local application of corticosteroids to the grafts showed slight reduction in immune reactions, which, however, become more violent four weeks after operation.

#### Group 5

To examine the immunosuppressive effects of drugs, antimetabolites and predonine were administered to the rats in which the fresh grafts were implanted subcutaneously. Actinomycin C (3 gamma/kg) and predonine (4 mg/kg) depressed moderately the immune reactions in the host. But these immunosuppressive effects were not so intense. It is important to use these drugs correctly without prominent side effects.

#### Group 6

Nerve grafts irradiated with relatively small doses (150,000 to 1,500,000 rep) showed similar effects on host-versus-graft reactions to those with 2,000,000 rep.

#### Experiment II

As the above experiment demonstrated that the irradiated grafts were most satisfactory for homologous implantation, it was examined whether long nerve defects could be successfully bridged by an irradiated graft in dogs or not.

The irradiated graft, 3.5 to 4.5 cm in length, was inserted with tubulation method into the gap of peroneal nerve in dog. An electron irradiated arterial fragment was used as a tube. The results were as follows:

This technique could prevent neuroma formation in junction, and regenerating nerve fibers were noted to run downwards, through inserted graft, into distal stump 200 days after operation. Stimulation of the graft and the nerve proximal to the graft produced vigorous contraction of dorsiflexors or dorsiflexion of foot in cases of long-term observation.

#### 緒 言

最近労働災害、交通災害が著しく増加する傾向にあ

り、この際末梢神経損傷に対する処置がゆるがせに出来ない問題になつてきた。また最近の諸種の大手術の際、止むを得ず切断した神経の再修復ということも重

要な課題の一つになつてきている。

元来、神経の修復には、端々吻合法、伸展法、套管法など諸種の方法がある。また神経移植法は、自家移植法 autograft、同種移植法 homograft、異種移植法 heterograft に分けられるが、これらの神経移植は1870年 Phillipaux and Vulpian<sup>23)</sup>が、移植神経は末梢へ再生神経を導くことが出来ると報告して以来行なわれ始めたものである。

この中、異種移植 heterograft は移植片を自由に得られる点では理想的であるが、免疫反応が激烈で、この反応を抑制する方法がなければ臨床的应用は不可能である。自家移植 autograft は、1931年 Ballance and Duel<sup>2)</sup> が人間で顔面神経修復に用いて以来、しばしば用いられて好結果を得ているが、人間では神経修復の場合に、部位により移植片としてとり出した神経の支配領域に大きな神経学的欠落症状を示す場合がある点で、これも使用が制限される。これに対し同種移植 homograft は自家移植 autograft のような神経学的欠落症状を来すようなことは勿論ないが、やはり免疫反応がおこつて軸索が移植片内へ伸びるのを妨害する。

以上より何れの移植方法もそれぞれ欠点があるが、臨床応用の観点からはやはり同種移植が最も可能性があると思われる。というのは、同種移植の際にみられる免疫反応を強力に押さえる方法さえみつければ、この移植法は最も有用な方法になりうるからである。

Bunnell<sup>4)</sup> は動物実験では2 cm迄の同種移植が成功するが、2 cm以上になると、宿主の免疫により移植片が破壊されてそれ以上は伸びないと述べている。その他種々の動物実験が行なわれているが、2 cm以上の長い移植片は殆ど不成功に終つている。Seddon, Holmes<sup>27)</sup> は1944年に人間で4例の神経同種移植を行なっているが、全例に失敗している。1950年 Davis and Ruge<sup>7)</sup> も10例の神経同種移植を行なっているが、機能の回復は得られなかつたと報告している。これら人間での失敗の原因について、Sanders<sup>26)</sup> は、異つた組織が宿主に移植されると、そこにかかる反応は、能動的に得られた免疫反応の一種で、必然的に移植せられた異物の量により反応の強弱に差が出来る。つまり動物実験では使用する移植片の長さは2～3 cmであるのに、人間では8～10 cmあるいはそれ以上となり、かつ直径も大となるわけであるが、宿主に移植される移植片の量が多くなればなる程、反応は早期に強烈に起り移植片が破壊されると述べている。

皮膚移植では、移植された生きた細胞が宿主の体表

で発育して行かねばならないが、神経移植はただ軸索が伸びてゆく route を確保するだけのものである。すなわち神経片は Longmire<sup>16)</sup> のいう homostatic graft または non-viable graft といわれるもので、この場合、細胞の活性を保存する必要性については疑問視されている。

Sanders<sup>26)</sup> は動物実験で神経同種移植が或程度成功しているが、移植の場合にみられる免疫反応を抑制するような方法が考案せられたなら、結果はもつと良いものになるであろうと述べている。このようなことから、移植片を処理して免疫反応を抑制する方法が、今迄にいくらか行なわれてきている。Ringer 溶液に浸漬する方法 (Sanders and Young, 1942<sup>25)</sup>、Gutmann and Sanders, 1942) とか freeze-drying method (Weiss 1944<sup>33)</sup>、Weiss and Taylor, 1945<sup>34)</sup>) 等が行なわれ、何れも新鮮移植片よりは好結果を得ているが、3 cm以上の長い移植片では、動物は機能を回復する迄には至っていない。

1963年 Leonard Marmor<sup>18)</sup> は神経移植片に200万 rep (roentgen equivalent physical) の電子線照射を行ない、ラットの皮下に同種移植を行ない、炎症性異物反応が非常に抑制されることを認め、また犬で腓骨神経に同様の処理を行なつた神経片を同種移植し、神経の機能的再生を認めている。同時にこの照射方法は神経片を滅菌する方法として最良の方法であることが確認された。

本論文は、主としてラットを用いてこの照射方法による神経移植法を研究すると共に、更に移植片及び宿主に種々の処理を行なつて、如何なる方法が移植免疫反応抑制に有効であるかを組織学的に検討した。また電子線を種々の照射量で段階的に照射して反応抑制に最も有効な照射量を求めようと試みた。また犬を用いて照射移植片による動脈管外套法神経移植を行ない組織学的に検討した結果を報告すると共に、この方法についての考察を加えた。

## 実 験 I

### § 実験材料並びに実験方法 (Fig. 1)

#### 1. 実験動物

体重150乃至200 gの成熟した Sprague-Dawley 系のラットを donor とし、Wistar 系ラットを recipient として使用した。

#### 2. 実験方法

##### 1) 移植片採取法

## Material

Rat .....N. ischadicus

N. brachialis

Dog .....N. fibularis

↓ -25~-30°C

## Electron Beam Irradiation

200×10<sup>4</sup> rep (1.5×10<sup>5</sup> rep/sec.) in Dry-Ice-

Alcohol Bath by VAN DE GRAAFF Generator

↓ -25~-30°C

## Transplantation

Rat .....Subcutaneous Implantation

Dog .....Homologous Nerve Grafting

Fig. 1 Method of Experiment

Sprague-Dawley 系のラットの腹腔内に大量の nembutal を注入してこれを屠殺し、直ちに両側の坐骨神経と上腕の神経を無菌的にとり出し、20ccの滅菌アンプルに入れ封入する。この場合採取した坐骨神経の長さは約20mm、直径は約1mm、上腕の神経の長さは約15mm、直径は約1mmである。

## 2) 移植片保存法

上記の移植片封入アンプルを deep freezer に入れ、1分間に1°C下降するように調節して-25~-30°Cに保存する。

## 3) 照射方法

通常、移植片採取後低温保存を24時間行ない、次いで移植片に大量の電子線照射を行なった。すなわち、dry-ice-alcohol bath 中 (-79°C) にアンプルを浮遊させ、Van de Graaff generator により1分間1.5×10<sup>5</sup> rep の割合で、13.5秒間 high-energy electron irradiation (合計200万 R.E.P.) を行なった。照射後直ちにドライアイスを入れた容器中に保存し、続いてdeep freezer に入れる。外観上移植片は照射前と何等変るところはない。但しガラス製のアンプルは褐色に変色する。

## 4) 対 照

1)の方法で採取した新鮮移植片を deep freezer に48時間保存したものを対照とした。

## 5) 移植手技

移植前30分乃至1時間の間に、deep freezer よりアンプルをとり出し室温に放置して移植片を復温せしめた。

Wistar 系ラット (体重 150 乃至200 g) の腹腔内に nembutal を30mg/kgの割合で注入し、ラットを麻酔する。次いでラットの背部を剃毛し、ヨードチンキで消毒してのち、脊椎骨に沿って5~6cmの皮切を加え、この部を経て移植片を側腹部皮下に移植した。この部は皮切部より約4cm離れるようにした。これらの操作はすべて無菌的に行なつた。照射群、コントロール群合せて50匹のラットを使用した。

## 6) 飼育方法並びに観察期間

餌料はラット用固型餌料を用い、飼育籠に入れて恒温室で飼育した。移植後2週目、4週目、6週目にラットを屠殺し、移植片及び周囲に反応について、肉眼的、組織学的に検索した。組織片は10%中性ホルマリンに固定してのちパラフィン包埋を行ないH.E.染色を行なつたが必要に応じて luxol fast blue の髄鞘染色、Holmes 法による軸索鍍銀染色を行ない、光学顕微鏡で観察した。

## § 実 験 結 果

## 1. 2週目のもの

対照の移植片は (Fig. 2), 肉眼的にみて、色は淡黄色不透明で、大きさは移植当時より腫大して塊状をなし、周囲は灰白色で、浮腫、充血が著明で、移植片は剝離しにくく、明らかな炎症性反応がみられた。所属リンパ腺の腫脹も認められた。これに反し照射群では (Fig. 3), 移植当時のままの真珠色の光沢を示し、大きさは殆ど不変で、移植片に腫脹を認めない。周囲には浮腫、充血等もなく、移植片の剝離は容易であつた。

組織学的に、対照群では著明な反応を認めた (Fig. 10)。すなわち移植片の周囲及び移植片内への強い小円形細胞浸潤、移植片内外の毛細管の新生、閉塞及び破壊、移植片の壊死、異物巨細胞の浸潤等が大多数に認められた。時に細胞浸潤だけが著明なものとか毛細血管の新生、閉塞及び破壊だけが著明なものなどもあつた。またこの時期になると移植片の周囲は線維芽細胞 (fibroblast) によりとり囲まれ、又線維芽細胞が移植片内に侵入してゆく像があつた。移植片をとり巻く被膜の部では、すでに強い collagen 化が始つている。Tubules も細胞浸潤や線維芽細胞の侵入によりその本来の構造を強く破壊されている。

これに反し、照射群は反応は殆どなく、移植片内外のリンパ球浸潤は minimal で、移植片内外の血管の新生、破壊等も殆どなく、異物巨細胞もみられない。移植片周囲に僅かな線維芽細胞が認められるのみで、

移植片内には侵入していない。従つてこの時期には、tubulesの構造は本来の形を保ち破壊されていない (Fig. 13, 14)。

### 2. 4週目のもの

肉眼的には、対照群では、2週目と同様に強い反応を示している。移植片は腫脹して大きさを増し塊となり、神経本来の色を失い淡黄色不透明で、周囲に浮腫、充血が著明である。一方照射群では、反応は2週目とはほぼ変りなく、移植片は本来の形を保ち、色調は移植当時のままか、あるいはやや黄色味を帯びているに過ぎず、周囲の反応は皆無と云える程であつた。

組織学的に、対照群では依然として移植片内外の細胞浸潤が著明であつた。血管の新生、閉塞及び破壊は消滅した感があるが、線維芽細胞の移植片内外への侵入は、2週目に比べると増強し、神経の構造は強く破壊されるようになる。移植片をとり囲むcollagenの被膜はその厚さを増し、また異物巨細胞も出現する (Fig. 11)。

照射群では尚この時期にも反応は少く、細胞浸潤、血管新生、破壊等は殆どなく、異物巨細胞もみられない。ただ移植片周囲に軽度の結合織性の被膜形成を認めるのみである。移植片内には線維芽細胞も侵入せず、tubulesはその形態を保つている (Fig. 15)。

### 3. 6週目のもの

対照群では、肉眼的に諸種の反応が消滅しつつある感じをうける。すなわち浮腫、充血は4週目より軽く限局性である。照射群は尚反応が少く、ただ、移植片が黄色調を呈し不透明となり、時に大きさが縮小していることもあつた。

組織学的には、対照群の移植片はほぼ完全に破壊されて、多くの線維芽細胞、collagen線維で置き換えられ、周囲も厚いcollagenの被膜が形成されている。細胞浸潤、異物巨細胞もかなりの程度に認められる (Fig. 12)。

この時期になつても、照射群は依然として移植片内の軸索構造を判別出来、移植片内の細胞浸潤は極く少く、時に神経に脂肪変性がみられたり、移植片内に軽度の線維芽細胞の侵入を認めることがある。被膜はその厚さを増してきている (Fig. 16)。

### § 小括並びに考察

この実験結果から明らかなように、神経の新鮮移植片の反応は、Medawar<sup>20)</sup>の述べているように、皮膚のhomograftの反応によく似ている。すでに2週目で反応は強烈で、細胞浸潤、血管の新生、閉塞及び破壊が

みられ、線維芽細胞も著明に出現して移植片は破壊されてhost-originの細胞で置き換ろうとしているのが観察出来た。Sanders<sup>26)</sup>によれば、反応の極期は30日目位に起こるとしているが、この実験結果からすると2週間前後でその極期が見られた。(Sanders<sup>26)</sup>によれば、反応の始る早さとか、反応の強さは用いられた移植片の大きさとかgenetic relationshipによるが、本実験で用いた移植片は長さ15~20mm、直径1mmのもので、これがラットにとつてどれ位の異物の量となるかは不明であるが、恐らく異物の量としては多いものと想像している。) この極期が過ぎると、線維芽細胞が著明に移植片内へ入り込み、移植片をとりまく被膜も厚くなり、collagen化する。

これに対して照射した移植片は、極端に反応が少く、その特徴とするところは、初期にも細胞浸潤が少く、線維芽細胞も殆ど出現せず、移植片は長期間破壊されないということである。

200万repという大量照射を行なえば、細菌は完全に死滅することが知られている。神経に照射してもおそらくその構成細胞は死滅しているものと思われる。

Sanders, Young<sup>25)</sup>はhomograft reactionを抑制する方法として、0℃のRinger溶液に1ないし2週間浸漬した神経移植片を用い、Weiss, Taylor<sup>34)</sup>はfreeze-drying法を用いて実験を行なつたが、この際初期のリンパ球浸潤は著明に抑制され後になつてmacrophageの浸潤を認めている。従つて彼等は、macrophageは死滅した細胞を処理するために出現したものであろうと述べている。照射群の反応にもこれと同様の所見があつたが、程度は極度に軽かつた。このことから、照射群での反応抑制作用は細胞の死ということのみでは説明されえない。

Luzzio<sup>17)</sup>によると、人血清γ-globulinに大量のionized radiationを行なうと、電気泳動的に違つた分子が出来、そのantigenic activityも異つてくると述べている。神経に照射を行なつてもおそらく神経構成物質に何らかの変性ないし固定が惹起され、従つて抗原性は変化がおり、(おそらく低下するものと思われる) 反応が弱まつたものと思われる。

照射群ではtubulesの破壊がないということも神経移植には好都合である。Sanders<sup>26)</sup>によると、新しい神経線維が接合部を越えて移植片へ延びてゆく時は、移植片の増殖したSchwann tubeを通り末梢へ到達するといわれているからである。反応が強くと、tubulesが破

壊されて線維性の結合組織が移植片内に存すると神経再生の barrier となり、axon は伸びにくい。照射神経片を用いればこのようなことは防止し得る。

## 実 験 II

### § 実験材料並びに実験方法

実験動物は実験 I と同じものを用いた。すなわち Sprague-Dawley 系、Wistar 系ラットをそれぞれ donor, recipient として用いた。

移植片採取は、実験 I に準じて行ない、Sprague-Dawley 系ラットより採取せる移植片は低温保存することなく直ちに次の処理を行った。

- 1) 70% アルコールで1週間固定する。
- 2) 10% 中性ホルマリンで1週間固定する。
- 3) 60°C の温湯中に30分間浸漬する。
- 4) 100°C で10分間煮沸する。

以上のように、4 群に分ち、実験 I と同様に Wistar 系ラットの側腹部皮下に移植した。アルコール、ホルマリン群は使用前生理的食塩水で十分に洗浄して、アルコール、ホルマリンを移植片より取除いて使用した。

実験に用いたラットは合計22匹である。各群について2週及び6週目で移植片をとり出し観察した。各々の観察期間について対照群を作製した。飼育方法、餌料は実験 I と同じである。

### § 実験結果

#### 1. 2週目のもの

肉眼的に、アルコール、ホルマリン固定を行なう群は、この時期にかなりの反応がみられた。すなわち移植片は著しく浮腫状となり腫大し、表面は淡黄灰白色不透明で、周囲にも浮腫、充血がみられたが、これは対照に比べると程度が軽く限局性であった。これに比べ、煮沸群、温湯処理群では (Fig. 4), 移植片の腫大は殆どなく、ただ毛細管が移植片をとり囲んでいるに過ぎず、剝離は容易であった。

組織学的に、アルコール固定群では、移植片周囲の円形細胞浸潤は著明であるが、移植片内には割合少く時にこれを殆ど認めないものもある。移植片内の毛細管の新生と破壊はごく軽度にしみられない。移植片周囲の線維芽細胞の出現の程度は軽度で被膜形成も著明でない。ホルマリン固定群では (Fig. 17), 反応態度はアルコール群と同様であるが、やや程度が強い。100°C 煮沸群は (Fig. 17), 細胞浸潤、巨細胞の出現も上二者に比べて軽く、移植片内に血管の新生は殆

どなく、線維芽細胞の出現の程度も軽く被膜も非常に薄い。60°C、30分処理群の方は、100°C、10分煮沸群に比べるとやや反応が強く、移植片内に細胞浸潤、血管新生線維芽細胞の侵入を認め被膜もやや厚い。

#### 2. 6週目のもの

肉眼的にアルコール、ホルマリン固定群は浮腫、腫脹はなく、充血も少くなっている。移植片は移植当時より縮少している。煮沸群は2週目と同様に反応は少く、特に移植片は著明に縮少している。

組織学的所見は、アルコール、ホルマリン群はほぼ同じ所見を呈する。すなわち、移植片周囲の細胞浸潤は著明であるが、内部への浸潤は少い。移植片内の血管新生、閉塞及び破壊は少いか殆ど認めない。巨細胞の浸潤は割合多い。線維芽細胞はこの時期になつてはじめて移植片内へ侵入しようとする。被膜の形成は中等度である。Collagen 化は著明でない。ホルマリン群は (Fig. 18), 上記の所見以外に、移植片内部に壊死状となつたところがみられ、この部に巨細胞が多数集合している像がみられる例が多くあつた。煮沸群は (Fig. 20), 60°C 30分、100°C 10分処理したものは共にほぼ同じ所見で、移植片内外の細胞浸潤、線維芽細胞の出現等は少い。尚この時期には移植片内に血管の新生がみられ、巨細胞も出現する。

### § 小括並びに考察

これらの反応で、主役をなすのは異物処理反応である。初期には移植片周囲に著明な phagocytosis を認めるが、線維芽細胞は少かつた。血管の新生、閉塞及び破壊はごく少く、巨細胞も他のものに比べると割合多く出現する。これらの所見は新鮮移植片にみられる移植反応とは趣を異にするし、反応としてはそう著明なものとは思われない。

Sanders, Young<sup>25)</sup> は2 cm のウサギの脛骨神経をアルコール固定して腓骨神経に移植したが、15ないし25日では宿主の神経との結合はみられず、組織学的に移植片の断端部に macrophage の巨大な浸潤を認め、神経線維は移植片の元の組織内へは進入せず、側方を通っていることをみた。61日目になると移植片の組織は殆ど破壊され、宿主の組織と代っていることを認めた。

本実験で長期観察したものは、42日目これをとり出したが、この時になつてはじめて線維芽細胞が移植片内に入り始め、宿主の組織により置換されようとする像がみられた。これは新鮮移植片に比べると非常に遅い。移植片が宿主の組織に置換されてしまうのには

更に長時間を要するものと思われる。

Sanders, Young<sup>26)</sup>はまた、61日目になると、断端の部では長軸方向に向う線維芽細胞や Schwann cell が認められるようになり、このような正常神経に似た組織が再び形成されて、その中に中枢端からのびでた再生線維をかなり含むことを認めている。つまり処理した移植片は、この中を神経線維が貫通するのではなく、宿主の神経を結びつけるのに役立つにすぎないと述べている。種々の処理を行なつた移植片は、宿主の組織がとつて代り、これを経て神経線維が伸びるとすれば、若し成功したとしても、必然的に機能の回復が遅れるものと思わなければならない。

著者は、細胞が死滅しておれば、移植反応は抑制されるものと考えてこの実験を行なつたが、異物反応は抑制出来なかつた。

これらの実験のうちホルマリン固定群は初期に反応は強度であつた。反対に煮沸群は反応が少なかつた。これは固定方法の相違によるものと思われる。

### 実 験 III

#### § 実験材並びに実験方法

実験動物並びに移植片の採取法はこれまでの実験と同じである。移植片採取後、低温保存することなく直ちに次の如く処理を行なつた。

1) 水溶性 Prednisolone 20mgを2ccの溶液に溶解し、1%の液を作製し、これを原液とする。原液を10倍、100倍、1,000倍、10,000倍に稀釈し、移植片を原液を含めた5段階の溶液中に1時間浸漬する。

2) Dexamethasone (Decadron) 4 mg/cc (0.4%) 溶液を原液とし、これを1)のごとく倍数稀釈して、この中に1時間浸漬する。

3) Cortisone Acetate (2.5%) 懸濁溶液を原液とし、同様に稀釈し浸漬する。

これらの各々の移植片を、これまでの実験と同じ方法でラットの皮下に移植した。使用した動物数は42匹である。観察期間は2週、4週とした。餌育方法は今迄の方法と同様である。(prednisolone 群は一部6週間観察した。)

#### § 実験結果

##### 1. 2週目のもの

肉眼的にはこの群の所見にはばらつきがある。すなわち反応の強いもの、反応の弱いものがみられるという特徴がある。前者では移植片の腫大、充血、周囲との癒着が著明である。

組織学的に prednisolone浸漬群と dexamethasone 浸漬群はほぼ同様の所見を呈する (Fig. 21)。すなわち移植片内外の小円形細胞浸潤および線維芽細胞の出現の程度は中等度で、血管新生は軽度で、破壊は殆どない。異物巨細胞の出現は軽度である。被膜はやや厚く神経の構造は中等度に破壊されている。浸漬せる溶液の濃度差と炎症反応の強さとはほぼ無関係である。これに比べ、cortisone acetate 浸漬群は反応が激烈であつた。対照群の所見をみるごとくである (Fig. 24)。すなわち移植片内外の小円形細胞浸潤は強く、線維芽細胞の増殖も著明で tubules は強く破壊されている。血管新生はみられるが破壊は著明でない。巨細胞は多くはない。被膜には collagen 化がみられる。cortisone 群も浸漬濃度の差と反応の強さは無関係である。

##### 2. 4週目のもの

特徴的なことは、2週目のものに比べ反応が増強していることである。移植片は腫大し灰白色を帯び、周囲に充血、浮腫を認め移植片の剝離は困難であつた。

組織学的にもこれが判然とし (Fig. 22)、prednisolone, dexamethasone 群では小円形細胞浸潤が著明に増強し、移植片内にも線維芽細胞が多数入り込み、tubules は強く破壊されている。被膜は厚くなり collagen 化が一層進んでいる。巨細胞は勿論出現している。移植片内の血管新生はそう著しくない。cortisone 群 (Fig. 25) もほぼ同様であるが、とくに線維芽細胞の増殖が目立っている。血管新生もかなりみられるが、破壊は軽度である。

#### § 小括並びに考察

今迄の諸家の移植実験から corticosteroids は免疫反応の結果からおこる移植片の rejection を抑制または防止する効果があることが知られている。

Zukoski<sup>37)</sup>によると、prednisolone は抗体産生の inductive phase を block すると述べているが、本実験では corticosteroids を早期に局所的に使用して反応を抑制させるという目的で、これらを移植片に浸透させて使用した。

この実験で特徴的なことは、初期に、予想に片してかなりの反応がみられたということである。これは prednisolone, dexamethasone 群では新鮮移植片ほどではないが、cortisone 群では反応の強さは新鮮移植片と同程度のものであつた。この相違は、前者は水溶性であり、後者は懸濁液であつたため移植片へ薬剤が附着浸透する量に差があつたためと思われる。

また更に、4週目の所見をみると全般的に反応が2



週目のものより増強した。すなわち新鮮移植片に比べると反応の極期に相<sup>14)</sup>のずれが見受けられた。つまり初期には水溶性 corticosteroids が反応抑制的に働き、或程度の効果を示したが、移植片に含まれる水溶性 corticosteroids の消失と共に、新たに激しい新鮮移植片に似た移植反応が起つたものと思われる。すなわちこの方法は初期の反応抑制にはやや有効と思われるが、後期にはこの移植片は新鮮移植片と同じような運命をたどる。つまりこれらの方法は、移植片の免疫性を抑制するには或程度の効果があるが、一時的なもので、かつ照射群と比較すればその抑制効果は非常に弱いものである。

1965年河村<sup>14)</sup>は、2 cmの犬の脛骨神経の欠損に対し、アルコール固定した中腔の同種動脈で架橋し、この中にプレドニン1.25mgを注入し、更に週2回の割で0.5mg/kgの全身投与を行なった結果、再生軸索の蛇行も認めず、新鮮自家神経片移植を行なったものと比較して遜色はないと述べている。すなわち河村の方法では corticosteroid が軸索が伸びるのに障害となる異物反応を抑制するように作用したものと考えられる。

著者の実験では局所に1回しか corticosteroids を投与しておらず、そのために割合反応が強く起つたのかも知れない。全身投与を併用すれば好結果を得たかも知れない。

## 実 験 IV

### § 実験材料並びに実験方法

実験動物、移植片採取法は今迄と全く同じである。移植片採取後直ちにラットの皮下に移植し、移植日より10日間次の量の代謝拮抗物質及び prednisolone を腹腔内に投与した。

- |                            |             |
|----------------------------|-------------|
| 1) 6-methyl-mercaptopurine | 3 mg/kg     |
| 2) Actinomycin C           | 3 $\mu$ /kg |
| 3) methotrexate            | 0.3mg/kg    |
| 4) 水溶性 prednisolone        | 4 mg/kg     |
| 5) 水溶性 prednisolone        | 0.4mg/kg    |

以上の5群に分ち、2, 4, 6週に分け観察した。(但し prednisolone 投与群は2週間のみに止めた。) 使用動物数は34匹である。

### § 実験結果

#### 1. 2週目のもの

肉眼的には代謝拮抗物質三者の間では相違は認められない。移植片の腫大、浮腫等は中等度であるが、周囲の充血は著明で移植片は周囲より剝離しにくい。

prednisolone 4 mg/kg投与群(大量投与群)では、浮腫、腫脹は軽度であるが、中等度の充血を認める。周囲との癒着は対照群ほどではない。0.4mg/kg投与群(普通量投与群)では(Fig. 5), 浮腫、腫脹、充血は中等度で、大量投与群に比べると程度は強い。大量投与群では皮膚縫合部とか時に移植片を中心とする膿瘍形成を認めた。

組織学的に、6 M.P. と methotrexate (Fig. 26, 32) はほぼ同様の所見を認める。その反応は中等度のものではあるが、corticosteroids 局所使用群ほど強くはない。移植片内外の小円形細胞浸潤、血管の新生、出血がみられ、特に移植片内での血管の破綻が著明である。またこの時期には線維芽細胞も移植片内外に見られ、tubulesはほんやりとその輪廓を止めているにすぎない。被膜形成は軽度である。Actinomycin C (Fig. 29) の反応形式もこれらにはよく似るが、細胞浸潤、血管の新生、出血は前二者に比べるとはるかに軽度であり、線維芽細胞の移植片内への侵入も軽く tubules の破壊も少ない。Prednisolone 大量投与群では(Fig. 35), 移植片内外に中等度の円形細胞浸潤、線維芽細胞の出現を認める。その上血管拡張、出血が著明であつた。周囲組織にも血管の新生が多く認められた。Tubulesは割合よく保たれている。普通量投与群(Fig. 36)では移植片内外特に移植片内への円形細胞浸潤が著明で、移植片の破壊は大量投与群より強い。出血は軽度である。

#### 2. 4週目のもの

肉眼的に代謝拮抗剤投与各群共2週目の所見とほぼ変りないが、充血はやや消滅している。

組織学的に、6 MP群(Fig. 27)では尚細胞浸潤を認めるが、血管の新生、出血はやや消滅しつつある。また線維芽細胞も更に移植片内に侵し tubules は僅かにその形を残しているに過ぎない。Actinomycin C (Fig. 30) 群は2週目に比べると線維芽細胞は増加しているが、tubules は尚かなり判然としている。Methotrexate 群(Fig. 33)でも線維芽細胞の増加を認めるが、血管新生、破壊は少なくなっている。

#### 3. 6週目のもの

2週、4週目のものに比べ、肉眼的に諸反応が消滅している。組織学的に、6 MP群(Fig. 28)ではまだ移植片内に少量の出血をみるが、移植片内の線維芽細胞は増加し、移植片の殆んどが線維芽細胞に置換されている。被膜も強く形成され、collagen化されている。これに反し、Actinomycin C 群(Fig. 31)は周囲の被

膜は強く collagen 化もみられるが, tubes はまだ充分その形態を止めている。Methotrexate 群 (Fig. 34) は 6 MP 群とほぼ同様の所見を呈するが, 被膜の反応は割合軽度である。

#### § 小括並びに考察

腎臓同種移植の実験で, 免疫抑制物質である代謝拮抗剤の使用が広く行なわれており, 実験犬の生存期間の延長とか, drug-induced tolerance を得たとの報告が多くある, これらの物質の作用機序については, Zukoski<sup>(36)(37)</sup>は, 6 MP, prednisolone は抗体産生の inductive phase を block する点で類似点があると述べている。また反応抑制作用は, prednisolone を用いるとリンパ節の胚芽構造が失われることに関係があると述べている。代謝拮抗剤の存在下では感作されたリンパ球は産生されなくなり, 生存しているリンパ球も薬剤で殺されてしまうという。Pierce, Varco<sup>(24)</sup>も, 6 MP はリンパ節, 脾臓でリンパ球が産生されるのを抑制すると述べている。すなわちリボ核酸の合成が抑制され, 抗体産生が block されて, 個体は移植片を damage することは出来ないと述べている。

これらの諸家の報告から, 代謝拮抗物質および prednisolone は免疫抑制に有効であると考え, 本実験を行なった。薬剤の投与は本実験では10日間行なった。この理由は, 反応の早期にこれらの薬剤を投与すれば有効であると考えたからである。しかし予想に反して, 反応抑制に著明な効果があるとは思われなかった。ただ Actinomycin C がやや有効であつたように思われる。また反応の極期が起こる時期についても, これらの薬剤の影響はなかつた。Zukoski は腎移植実験で, 薬剤の投与を中止すると直ちに rejection が起こることをみとめているが, 著者の実験でも長期にわたり薬剤を投与しておれば, 或いは異つた結果を得たかも知れない。

代謝拮抗剤のうちでも, 個々の薬剤により反応が少し異なっており, 6 MP, methotrexate では移植片内の血管からの出血が著明であつた。prednisolone 大量投与群でも移植片内の出血は著明であつたが, 移植片の破壊が少い点で有効であつたと思われる。

組織学的検索の結果からすれば, これら代謝拮抗物質, とくに Actinomycin C と prednisolone は臨床的に応用しようと思われる。しかしこれら薬剤の副作用というものを念頭に置かなければならない。動物は食欲不振, るいそう, 出血等を来し, methotrexate 3 mg/kg 使用した動物は, 数日で全例死亡した。またこれら

代謝拮抗物質が神経線維の伸び方にも影響を与えることも考えられる。この実験と平行して行なつた池田<sup>(13)</sup>の実験によれば, 代謝拮抗剤を用いた場合, Actinomycin C 使用群では再生神経線維の伸びにはあまり影響はなかつたが, 6 MP, methotrexate 使用群では神経線維の伸び方が著明に抑制されたと報告している。

## 実 験 V

### § 実験材料並びに実験方法

実験動物, 移植片採取法は今迄の実験と全く同様である。移植片採取後,  $-25^{\circ}\sim-30^{\circ}\text{C}$  の deep freezer に 24 時間保存し, dry-ice-alcohol bath 中で, 15 万, 30 万, 50 万, 100 万, 150 万 rep と 5 段階に分けて照射し, それぞれの照射量の移植片を 20 匹のラットの皮下に移植し, 2, 4, 6 週に分けて観察した。

### § 実験結果

#### 1. 2 週目のもの

肉眼的には, これら各段階の移植片の反応は照射量による差異は見出せないし, 200 万 rep 照射群と有意の差はつけられない。すなわち, 反応は軽微で, 移植片は移植当時の形, 大きさを保ち, 充血も少く, 周囲よりの剝離も容易である。

組織学的に (Fig. 37), 移植片の周囲に軽度の小円形細胞浸潤, 毛細血管の新生, 線維芽細胞の出現を認める。移植片内にはこれらの反応はごく軽度にしかられず, とくに移植片内に線維芽細胞は侵入していない。従つて移植片は本来の構造を保っている。被膜は軽く collagen 化がみられるに過ぎない。すなわち, ここにみられる反応は 200 万 rep 照射群よりやや強いものである。またこれらの所見は照射量が異つてもほとんど差がみとめられない。しかし照射量が多くなれば小円形細胞浸潤がやや少くなっている傾向はある。

#### 2. 4 週目のもの

肉眼的に反応は極く軽微で, 照射量による差は認めない (Fig. 6)。

組織学的には (Fig. 38), 2 週目に比べ移植片内外の小円形細胞浸潤は強くなる。移植片周囲には血管新生を認めるが, 内部には少くまた血管の破綻は認められない。被膜の collagen 化は著明でない。移植片内へは線維芽細胞は全くといつていい位出現していない。しかし細胞浸潤のため tubes の排列が乱れ, 脂肪変性が起つているところもある。巨細胞は殆んど見られない。

#### 3. 6 週目のもの

4週目に比べ反応は減弱している。移植片内外の細胞浸潤は軽度である。血管の新生は殆んど認めないし、移植片内にも線維芽細胞は殆んど侵入していない。移植片内の tubes は脂肪変性に陥っているものが多い (Fig. 39)。

#### § 小括並びに考察

実験 I で大量照射群は著明に炎症性異物反応が抑制されることを知った。しかしどの程度の照射量が反応抑制に有効であるかは不明である。もつと少い照射量で反応が抑制されるかも知れないという可能性はあり得る。

本実験では、移植片を無菌的にとり出して5段階に分けて照射を行なったが、この照射量でも、200万 rep 照射群ほどではないが、著明に炎症性異物反応を抑制することができた。すなわち細胞浸潤、線維芽細胞の出現は極度に少く、この状態が長期間保たれていた。僅か15万 R.E.P. の照射のもので、今迄の他の処理法に比べて断然優れていた。そして照射量の少いものと多いものとは、あまり大きな差はなかつたが、それでも組織反応からみれば、200万 rep 照射のものが最も成績がよく、ここまでくると殆んど細胞反応を認めなかつた。しかも Meeker, Gross<sup>21)</sup>等には、200万~250万 rep 以上の照射で初めて滅菌が完全であると述べていること、人間の場合はこれらの移植片を多くの場合屍体から取らねばならず、その際汚染が必至であることを思いあわせると、やはり200万 rep 以上の照射が適当であると思われる。

## 実 験 VI

### § 実験材料並びに実験方法

#### 1. 移植片採取方法

8~15kgの雑種成犬を用い、50mg/kgの割合で nembutal を静注し麻酔する。ついで大腿外側に皮切を加え、m. biceps femoris と m. semitendineus との間で腓骨神経を露出し、坐骨神経分岐部直下より5~7cmにわたりこれを切除し移植片とする。更に同側の股関節部で股動脈を露出し、これを5~6cmにわたり切除する。切除後はこれは4~5cmに縮少する。これら神経、血管を同一のアンプルに入れ封入する。これらの操作はすべて無菌的に行なつた。低温保存は24時間とした。

#### 2. 照射方法

ラットの際と同様にして、200万 rep 照射した。

#### 3. 移植手技 (Fig. 7)

移植方法は1954年、竹友、渡辺の報告した動脈管外套法を用いた。ただし彼等は外套管としてアルコール固定動脈管を用いたが、我々は電子線大量照射を行なった動脈管を用いた。8~15kgの雑種成犬を用い、nembutal で麻酔を行なう。犬の右下肢で腓骨小頭を中心に、肢の長軸に沿う約10cmの皮切を加える。次いで腓骨神経を露出し、分岐部より2cmの所から約2~3cmにわたり神経を切除する。(これにより神経の両端は収縮して3~5cmの欠損を生ずる。) この欠損部に神経移植片を用いて同種移植を行なつた。神経並びに血管移植片は術前30分ないし1時間前に deep freezer よりとり出し、室温に放置して復温し、これを滅菌生理的食塩水に浸漬して用いた。まず腓骨神経の近位端と移植片との間の吻合を行なつた。すなわち動脈管を二分し長さ1.5cm~2.0cmとする。各々の中央に小孔をあけ、次いで近位神経端に誘導糸を設け、血管端より血管中央の小孔にこの神経端を引き出し、その側の血管端と神経外鞘との間に実質を損傷せぬようにして3~4ヵ所縫合糸をかける。縫合糸は5-0 black silk または4-0 nylon を用いた。ついで神経移植片にも誘導糸を設け同様に血管端と神経外鞘との間を縫合固定する。中央孔より露出した両神経断端を鋭利に切除する。この際両神経端はやや重なる程度とし、血管両端にかかる張力を与え、断端を管内に納め両神経端を適合せしめる。ついで血管中央の小孔を縫合糸で閉じる。ついで、遠位神経端と移植片との神経縫合を同様

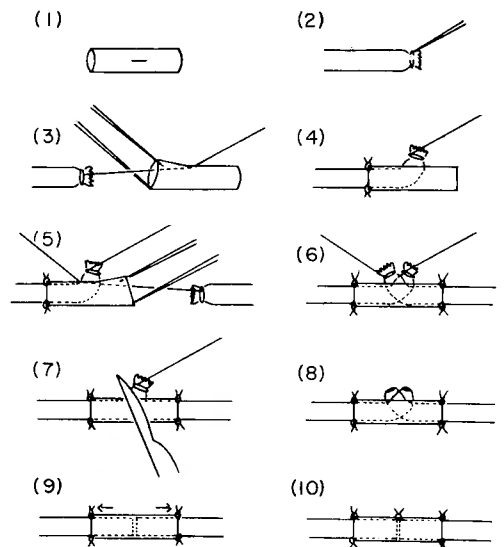


Fig. 7 Tubulation Technique of Peripheral Nerve Anastomosis (by Taketomo)

の方法で行なつた。この際使用した神経移植片は、切除した実験犬の神経欠損部の長さよりも0.5~1.0cm長いものを用いた。最後に筋膜、皮膚を縫合し、抗生物質を筋注した。

#### 4. 観察期間及び観察方法

術後1ヵ月以内、2ヵ月及び6ヵ月以上の各時期に移植部を露出し、神経縫合部、動脈管外套部、移植神経片及び周囲の反応等を肉眼的に観察してのち、組織学的検索を行なつた。

#### 5. 対照実験

1) 5頭の犬を用い無処理の新鮮神経移植片並びに動脈を用いて上記と同様の方法で移植し対照とした。

2) 移植方法に関しては、照射神経移植片を用い神経鞘縫合端々吻合を行なつて比較検討した。

#### § 実験結果

無処理移植片を用いたものは、約2ヵ月で肉眼的に神経両接合部で強い浮腫、腫脹を認め、周囲との癒着が強度であつた。移植片周囲も強い結合組織でとり囲まれ、神経移植片はその中央部で線維状の索となつていた。

組織学的には、移植片に強度の細胞浸潤、壊死、出血及び線維化がみられた。これらの変化は両接合部とくに近位接合部に著明にみとめられ、またこの部にはこれら諸反応と共に神経腫の形成を認めた。再生神経線維は移植片の中枢側の一部に僅に伸びているに過ぎない。

照射移植片を用い端々吻合を行なつたものは、術後2ヵ月目には近位接合部で著明な神経腫を形成するが、これを組織学的にみると、再生神経線維は一部では周囲組織の方へ散乱するが、他の線維は吻合部をこえて真直ぐにdistalに伸びて行き、fasciculusを形成する。移植片は壊死をおこさず、線維化も軽度で、tubulesも形を保っている。

これに対し、照射移植片を用いて行なつた動脈管外套法の例では(Fig. 9), 神経腫の形成はなく動脈管と周囲組織との癒着は強かつたが、動脈管と神経の癒着は軽度で、術後6日目ですでに軸索が移植片内に規則正しく伸び始める像がみられ、2ヵ月では軸索は上接合部を完全に貫き、移植片内に伸びてゆく。この際上接合部を越える部で、軸索は筈状に放散するが、下部に伸びるにつれて次第にこれが集つて神経線維束を形成する。6~7ヵ月観察例では(Fig. 40-1, 2, 3), 下部接合部をこえて、遙かにdistalへ伸びているのが証明された。下部接合部を越える際にも筈状の放散が

おこる。これらの期間中移植片周囲の反応は少く、移植片の腫脹、線維化なども認めず、6~7ヵ月目に剔出したものでは、表面は真球色光沢を示し、上下に走る血管が認められた。なお長期観察例12例を共同研究者の池田が電気生理学的に検索した結果、大部分の例で立派にaction potentialを証明し、また5例に於て刺激による足関節の背屈を認めている。

#### § 小括並びに考察

Marmor<sup>18)</sup>の方法は、照射移植片による端々吻合法であつた。この吻合法は、移植反応が最も強く起こる接合部に更に縫合糸をかけて、その刺激により更に反応を増強せしめ神経腫を形成するという不利な点をもっている。

神経の修復に際し、その接合部を種々の物質で被うという試みが多くなされている。Weiss<sup>35)</sup>は小さな神経の吻合の際、新鮮な動脈のautograftを用い、機能的にも、組織学的にも好結果を得ている。Bassett, Campbell<sup>3)</sup>はmilipore tubeを神経欠損部に用い、軸索が神経以外の所に伸びようとすることや、この部に結合組織が入りこむことを防ぎうると述べている。1964年Hochuli<sup>10)</sup>はmiliporeが縫合部に結合組織の侵入することを防ぎ、縦軸に沿つてneural sheathを伸びさせることが出来るとし、またmiliporeの孔は細胞外液のdifusionをおこさせ、神経の栄養状態をよくさせるということを認めている。しかしこれは2,3ヵ月後におこる石灰化を防ぐために二次的手術により取り出さなければならないという不便がある。

1954年渡辺<sup>32)</sup>は、竹反の方法を改良し、70%アルコール固定を行なつた動脈片を用いて動脈管外套法神経吻合術を行なっている。その目的は神経両端を正確に接着させ、接合部に糸をかけないで、できるだけ反応を抑制し、神経線維が周囲の組織へ逃げないようにすることにある。Kline, Hays<sup>15)</sup>は1964年、牛の腿を照射し、これで作製した吸収性のwrapperは神経修復の際接合部に用いると神経腫も形成されず、軸索も真直ぐに伸びることを認めている。

著者も竹友、渡辺の方法を採用したが、外套管としてはアルコール固定より大量照射片の方が反応が少いことを考慮して後者を用いた。

これらの外套法に対しては従来から種々の批判が加えられている。Bunnell<sup>4)</sup>によると、外套法は神経移植に不適であるという。この理由として、外套法を用いると移植片の血液供給は阻害され、移植片は壊死になるというのである。これは移植片の血管は主に宿主の

神経端から進入してくるという Sanders らの考えに基づくものと思われるが、Davis, Ruge<sup>27)</sup>らによると周囲の組織からも新生血管が移植片内に入ることが証明されている。このことから、外套法を行なつても必ずしも壊死の心配はなく、事実本実験の長期観察例でも照射移植片は壊死に陥つていなかった。軸索は接合部を越えて、長軸方向に規則正しく伸びていたし、動脈管と周囲とは癒着が強かつたが、動脈管と神経との癒着は軽度であつたし、接合部に神経腫の形成はなかつた。すなわち外套法の目的は充分達せられていた。

著者は動脈管にも照射を行なつた。これにより、同種動脈片による免疫反応は抑制されると考えている。6~7ヵ月観察例で、尚動脈管は元の形を保ち、吸収もされてないし、石灰沈着も認められない。また動脈管による絞扼等も認めていない。

1964年、Johnson, Smith<sup>11)</sup>らは犬の末梢神経の吻合に methyl cyanoacrylate (Eastman monomer 910) を用いた。彼らは小さく切除した筋膜にこれを塗つてのち、神経切断部をこれで包み好結果を得ている。しかし nerve trunk に塗つた例では重篤な神経炎を認めた。反応が少いものであれば非常に有用な方法であると思われる。

### 総括並びに結語

1. ラットを用い、神経同種移植の実験的研究を行ない次のような結果を得た。

1) 新鮮神経同種移植片は、皮膚の移植の際にみられると同様の激しい移植反応を示す。反応の極期は2週前後にみられ、次第に宿主の組織に置換される。

2) 照射移植片は反応が minimal で、特徴とするところは、細胞浸潤がごく軽度で、線維芽細胞の出現も抑制されるということである。この所見は Marmor の報告と一致する。反応抑制作用は、細胞の死及び神経構成成分の特殊な変性ないし固定によるものと思われる。この照射方法による神経移植法は臨床的応用が可能である。

3) 種々の処理を行なつて細胞を死滅させた移植片のひき起す反応は異物処理反応である。後期になつて線維芽細胞が出現するため、移植片と宿主神経との結合は非常に遅れる。このためこれらの方法は神経移植法としてはあまりよいとは云えない。

4) Corticosteroids を移植片に浸漬させると、初期の反応はやや抑制されるが、4週目には激しい反応を呈する。従つて他の方法と併用すれば良結果がえられ

る可能性がある。この際水溶性の corticosteroids を用いるべきである。

5) 代謝拮抗剤として、6 MP, methotrexate, Actinomycin C の作用を検討したがその中では Actinomycin C が免疫抑制効果が良好でかつ副作用も少なかつた。しかし代謝拮抗剤は神経軸索の伸びも或程度抑制するので、神経移植に用いる場合はこの点を充分考慮に入れる必要がある。尚投与量、投与期間も充分検討する必要がある。また prednisolone 大量投与も或程度有効であつた。しかし著明な効果を認めることが出来なかつた。

6) 移植片に15万 rep より150万 rep まで段階的に照射した場合、移植片の反応は肉眼的には殆んど差がなく、よく反応が抑制されていたが、組織反応からすれば、照射量の多いものほど成績が良かった。滅菌ということを考え合せると、やはり200万 rep の照射が適当であると思われる。

2. 犬に照射神経片を用いて、動脈管外套法による神経同種移植実験を行ない次の結果を得た。

この方法を用いると、同種移植の際の諸反応は著明に抑制せられ、軸索は移植片を通り更に distal へよく伸びており、機能的にも組織学的にも神経の再生が証明された。この方法は神経同種移植方法として有用な方法である。

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました半田 肇教授、並びに終始御指導を戴いた景山直樹助教授（現関西医科大学）に衷心より感謝いたします。更に種々御協力をいただいた、共同研究者である池田公行学兄にもあつく御礼申しあげます。

### REFERENCES

- 1) Babcock, W. W. : A standard technique for operations on peripheral nerves. With special reference to the closure of large gaps : Surg. Gyn. Obst., **45** : 364-376, 1927.
- 2) Ballance, C. & Duel, A. B. : The operative treatment of facial palsy. By the introduction of nerve grafts into the fallopian canal and by other intratemporal methods : Arch. Otolaryng., **15** : 1-70, 1932.
- 3) Bassett, C. A., Campbell, J. B., and Husby, J. : Peripheral nerve and spinal cord regeneration. Factors leading to success of a tubula-

- tion technique employing milipore : *Experiment. Neurol.*, **1** : 386-406, 1959.
- 4) Bunnell, S. : Transplantation of nerves. In "Transplantation of tissues." p. 247-268, the Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1959.
  - 5) Campbell, J. B., Bassett, C. A. L., Girado, J. M., Seymour, R. J. and Rossi, J. P. : Application of monomolecular filter tubes in bridging gaps in peripheral nerve and for prevention of neuroma formation. A preliminary report. : *J. Neurosurg.* **13** : 635-637, 1956.
  - 6) Davis, L. and Cleveland, D. A. : Experimental studies in nerve transplants : *Ann. Surg.*, **99** : 271-283, 1934.
  - 7) Davis, L. and Ruge, D. : Functional recovery following the use of homogenous nerve grafts. *Surgery*, **27** : 102-114, 1950.
  - 8) Guth, L. : Regeneration in the mammalian peripheral nervous system. *Physiol. Rev.*, **36** : 441-478, 1966.
  - 9) Handa, H., Kageyama, N., Nakajima, S., and Ikeda, K. : Successful homologous nerve transplantation using high-energy electron irradiated graft : *Jap. J. Transp.*, **1** : 98, 1965.
  - 10) Hochuli, R., and Segmüller, G. : Milipore covering of nerve sutures. *Helvet. Chirurg. Acta*, **31** : 142-149, 1964.
  - 11) Johnson, G. W., and Smith, G. W. : Effect of methyl cyanoacrylate on the central nervous system. A preliminary evaluation in nerve anastomosis : *Surg. Forum*, **14** : 414-416, 1964.
  - 12) Kageyama, N., Nakajima, S. and Ikeda, K. : Regeneration of peripheral nerves by irradiated homografts : *Neurol. Med.*, **6** : 148-149, 1964.
  - 13) 景山直樹, 池田公行, 中島正二, 半田 肇, 松永守雄 : 同種移植による末梢神経の再生. 脳と神経, **18** : 351~358, 1966.
  - 14) Kawamura, Y. : Experimental studies on peripheral nerve regeneration. II. : *Neurol. Med.* **1** : 147-148, 1964.
  - 15) Kline, D. G. and Hayes, G. J. : The use of a resorbable wrapper for peripheral nerve repair. Experimental study in chimpanzees. : *J. Neurosurg.*, **21** : 737-750, 1964.
  - 16) Longmire, W. P., Cannon, J. A. and Weber, R. A. : General surgical problems of tissue transplantation. In "Preservation and Transplantation of Normal Tissues" A Ciba Found. Symp., p. 23-43, J. & A. Churchill Ltd. London, 1954.
  - 17) Luzzio, A. J. : The serologic specificity of radiation altered human serum gamma-globulin. : *J. Immun.*, **90** : 224-227, 1963.
  - 18) Marmor, L. : Regeneration of peripheral nerves by irradiated homografts. : *J. B. J. S.*, **46-A** : 383-394, 1964.
  - 19) Matson, D. E., Alexander, E. Jr. and Weiss, P. : Experiments on the bridging of gap in several nerves of monkey. *J. Neurosurg.*, **5** : 230-248, 1948.
  - 20) Medawar, P. B. : The behaviour and fate of skin homografts in rabbits. *J. Anat.*, **78** : 176-199, 1944.
  - 21) Meeker, I. A. & Gross, R. E. : Sterilization of frozen arterial grafts by high-voltage cathode-ray irradiation : *Surgery*, **30** : 19-28, 1951.
  - 22) O'Callaghan, W. J. and Speakman, T. J. : Axon regeneration in the rat spinal cord. *Surg. Forum*, **14** : 410-411, 1964.
  - 23) Philipeaux, J. M. and Vulpian, A. : Note sur des essais de greffe d'un tronçon de nerf lingual entre le deux bouts du nerf hypoglosse, apres excision d'un segment de ce dernier nerf. *Arch. de Physiol. Norm. et Pathol.*, **3** : 618-620, 1870.
  - 24) Pierce, J. C. and Varco, R. L. : Prolonged survival of a renal homograft in a dog treated with 6-mercaptopurine. *Surgery*, **50** : 186-195, 1961.
  - 25) Sanders, F. K. and Young, J. Z. : The degeneration and re-innervation of grafted nerves. *J. Anat.*, **76** : 143-166, 1942.
  - 26) Sanders, F. K. : The preservation of nerve grafts. In "Preservation and Transplantation of Normal Tissues," A Ciba Found. Symp. p. 175-189, J. & A. Churchill Ltd., London, 1954.
  - 27) Seddon, H. J. and Holmes, W. : The late

- condition of nerve grafts in man. Surg. Gyn. Obst., **79** : 342-351, 1941.
- 28) Seddon, H. J. Nerve grafting. Fourth Watson-Jones lecture of the royal college of surgeons of England. 1963. J. B. J. S., **45-B** : 447-461, 1963.
- 29) Seddon, H. J. : The use of autogenous grafts for the repair of large gaps in peripheral nerves. Brit. J. Surg., **35** : 151-167, 1948.
- 30) Spurling, P. G., Lyons, W. R., Whitcomb, B. B. & Woodhall, B. : The failure of whole fresh homogenous nerve grafts in man. J. Neurosurg., **2** : 79-101, 1945.
- 31) Taketomo, A. : A new method of nerve suture and of repair of the gap of the nerve. Kyoto Igakkai Zasshi, **2** : 628-629, 1952.
- 32) Watanabe, K. : A new method of peripheral nerve anastomosis : Reunion of a severed nerve by tubulation fixed in 70% alcohol. Arch. Jap Chir., **23** : 458-460, 1951.
- 33) Weiss, P. : Functional nerve regeneration through frozen-dried nerve grafts in cats and monkeys. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **54** : 277-279, 1943.
- 34) Weiss, P. & Taylor, A. C. : Repair of peripheral nerves by grafts of frozen-dried nerve. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **54** : 274-277, 1943.
- 35) Weiss, P. : Reunion of stumps of small nerve by tubulation instead of suture. Science, **93** : 67, 1941.
- 36) Zukoski, C. F. & Callaway, J. M. : Tolerance to a canine renal homograft induced by 6-methyl mercaptopurine. Surg. Forum, **13** : 62-64, 1963.
- 37) Zukoski, C. F., Callaway, J. M. & Rhea, W. G. : Tolerance to a canine renal homograft induced by predonisolone : Surg. Forum, **14** : 208-210, 1964.

**Fig. 2**

Control Group ; 2 weeks after subcutaneous implantation in the flank.

Top ; Trunk Bottom ; Inside surface of inverted skin.

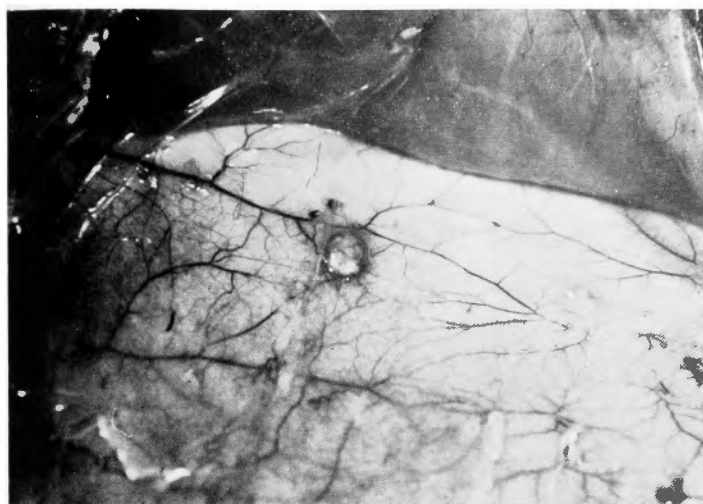
**Fig. 3**

Irradiated Graft ; 2 weeks after subcutaneous implantation.

**Fig. 4**

Graft Boiled in Water (100°C, 10 min.); 2 weeks after subcutaneous implantation.





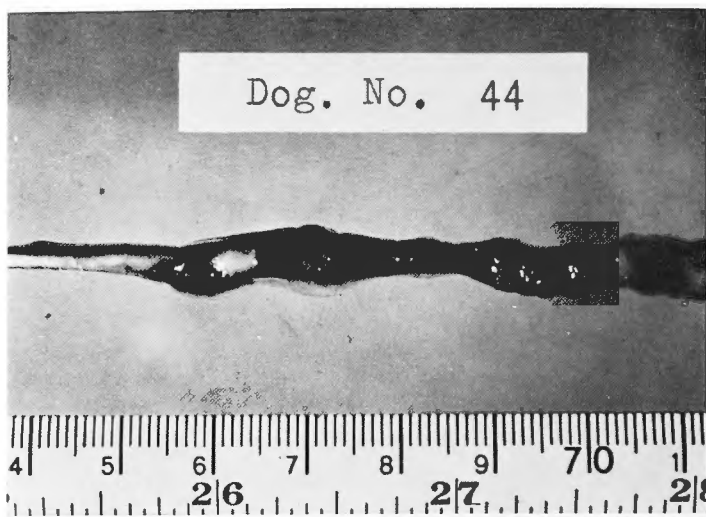
**Fig. 5**  
Predonisolone (0.4 mg/kg) Administration. 2 weeks after subcutaneous implantation.



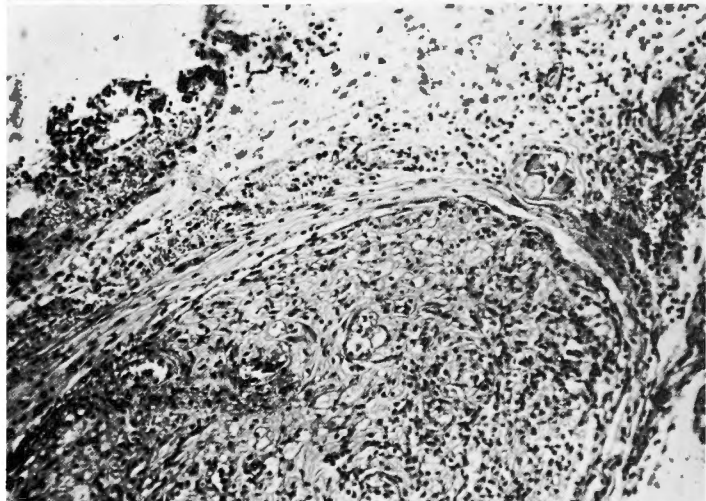
**Fig. 6**  
Irradiated Graft ( $1.5 \times 10^5$  rep); 4 weeks after subcutaneous implantation.



**Fig. 8**  
End-to-End Anastomosis (Irradiated Graft); 207 days after operation.

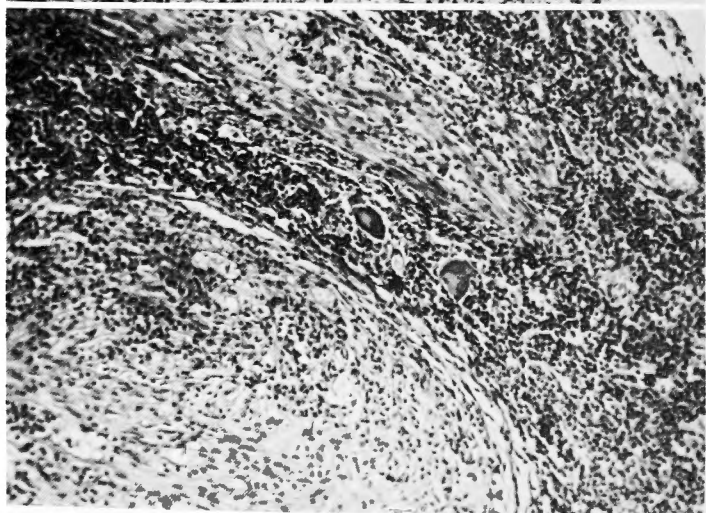
**Fig. 9**

Tubulation Method ; 62 days  
after operation.

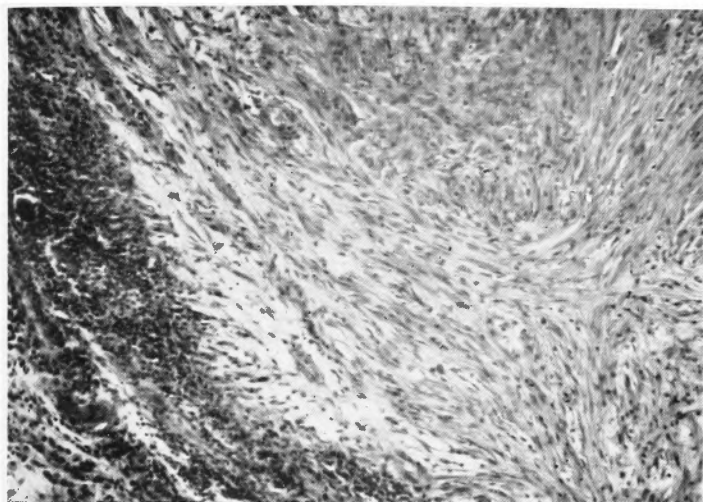
**Fig. 10**

Control Group ; 2 weeks after  
implantation. Severe inflam-  
matory responses are found.

H.E.  $\times 250$

**Fig. 11**

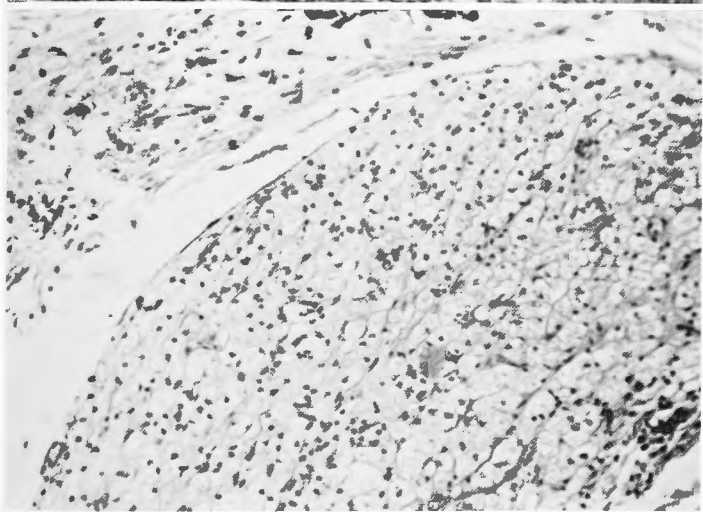
Control Group ; 4 weeks. Giant  
cells are present.  $\times 250$



**Fig. 12**

Control Group ; 6 weeks.

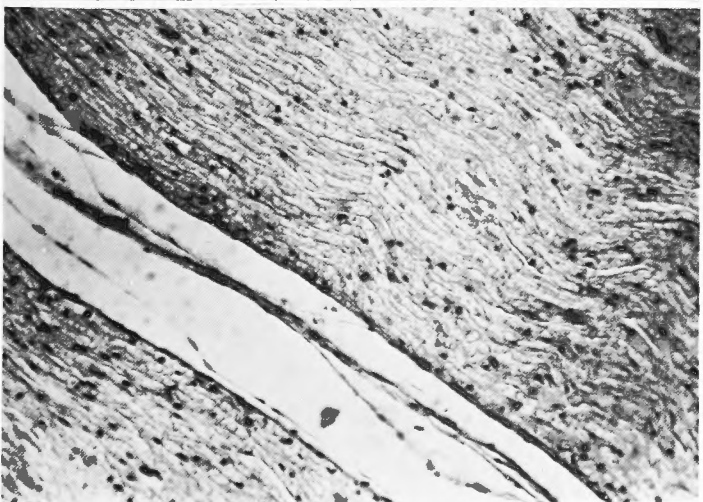
Marked fibroblastic invasions  
within the graft.      × 350



**Fig. 13**

Irradiated Graft ; 2 weeks.

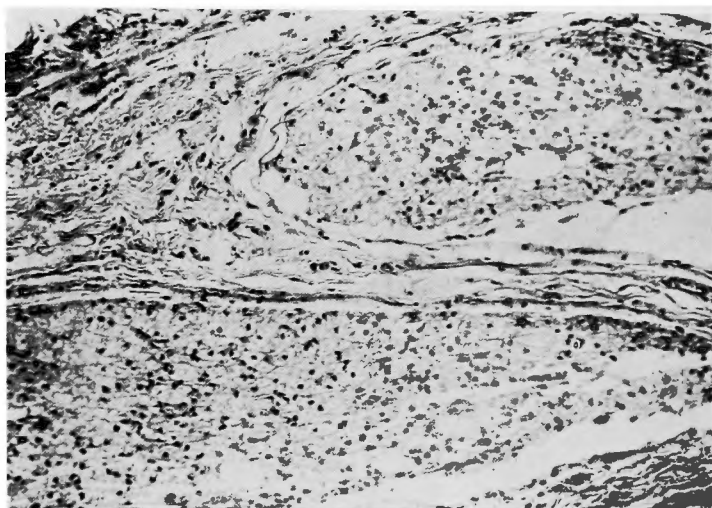
Showing minimum inflammatory  
reaction.      × 350



**Fig. 14**

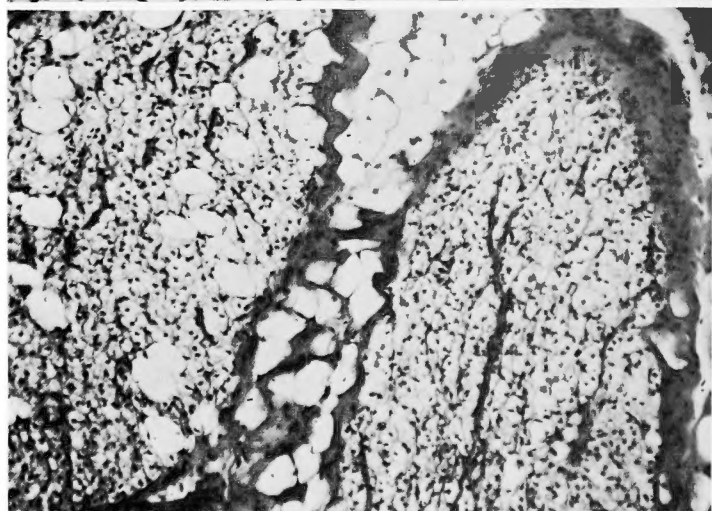
Irradiated Graft ; 2 weeks.

Internal architectures are well  
maintained.      × 350

**Fig. 15**

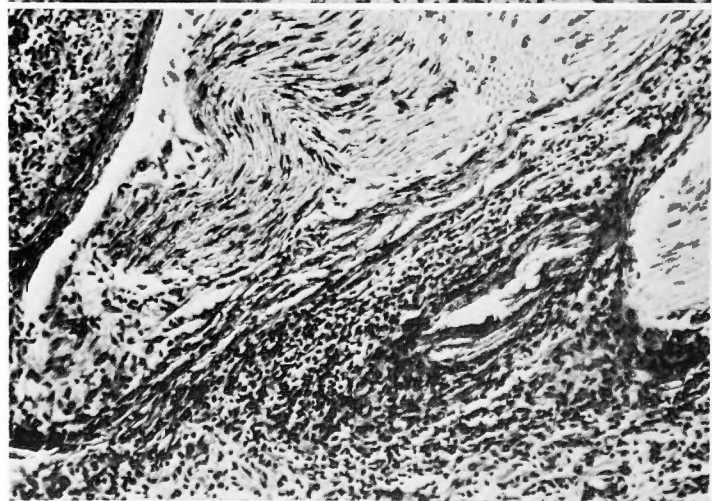
Irradiated Graft ; 4 weeks.

× 350

**Fig. 16**

Irradiated Graft ; 6 weeks.

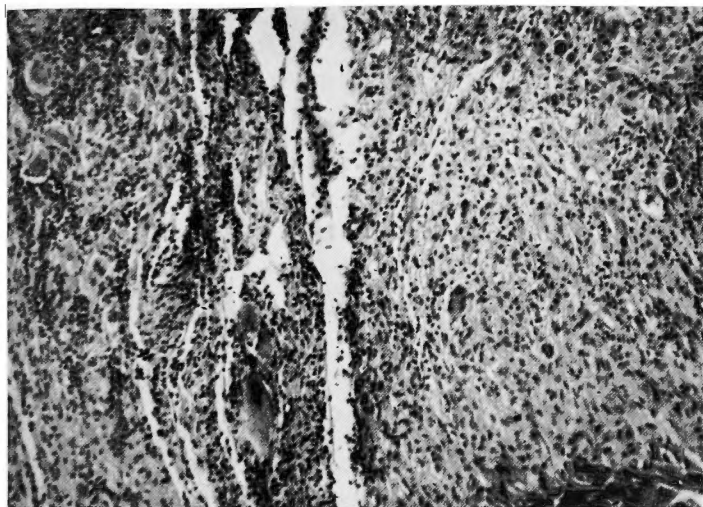
Few fibroblasts are present within the graft. × 350

**Fig. 17**

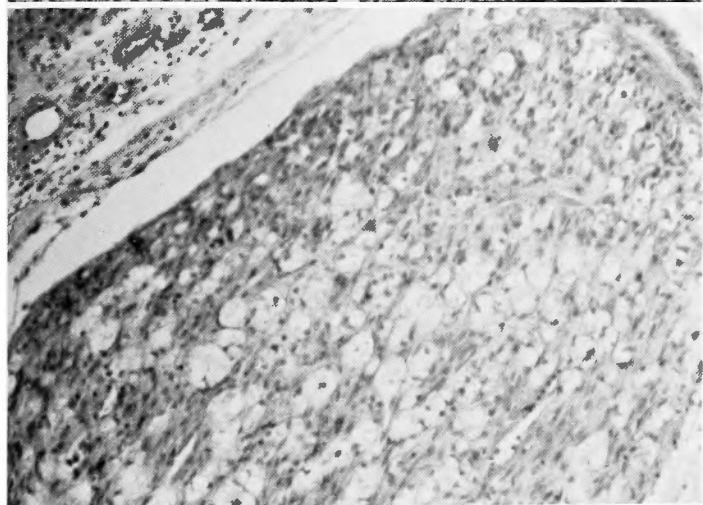
Graft Fixed in Formalin ;

2 weeks.

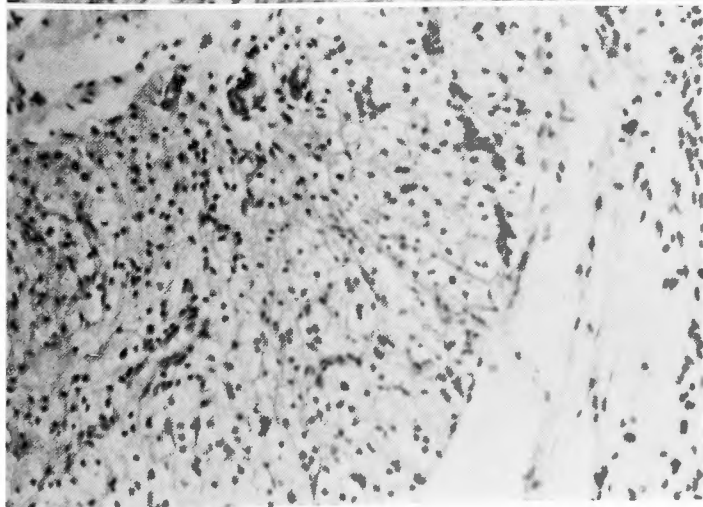
Macrophages accumulating about the graft. × 350



**Fig. 18**  
Graft Fixed in Formalin ;  
6 weeks.  
Giant cells and macrophages are  
found about and within the graft.  
× 350

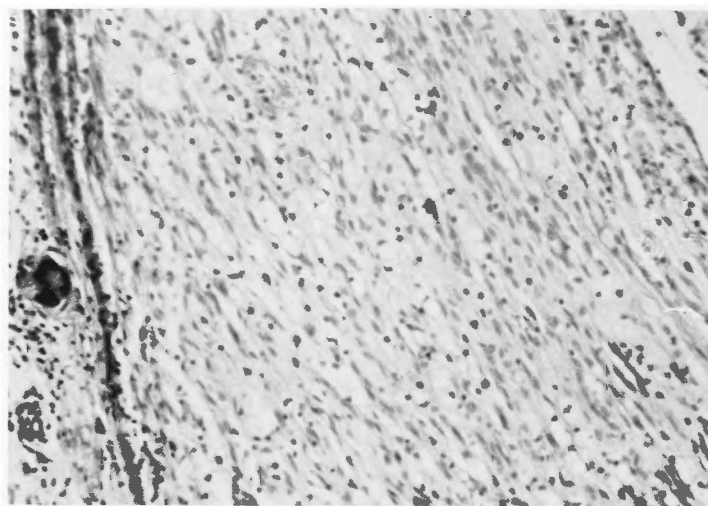


**Fig. 19**  
Graft Boiled in Water ; 2 weeks.  
Showing slight cellular infiltra-  
tion within the graft. × 350



**Fig. 20**  
Graft Boiled in Water ; 6 weeks.  
× 350



**Fig. 21**

Local Application of Dexamethasone ; 2 weeks.

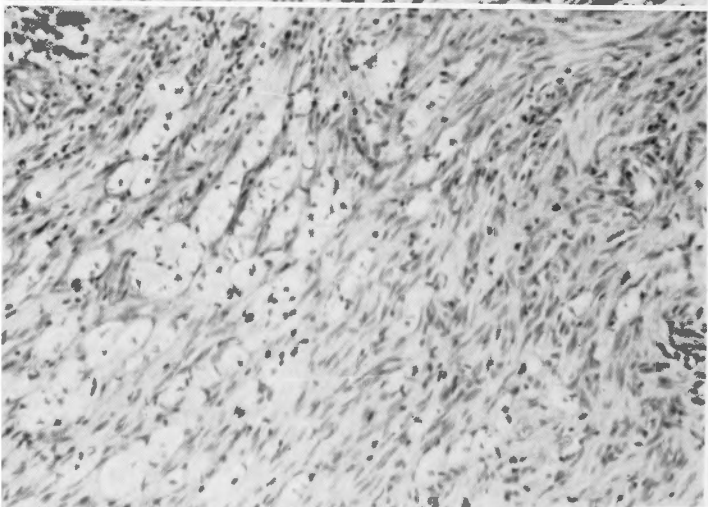
Reactions are reduced as compared with control group.  $\times 350$

**Fig. 22**

Local Application of Dexamethasone ; 4 weeks.

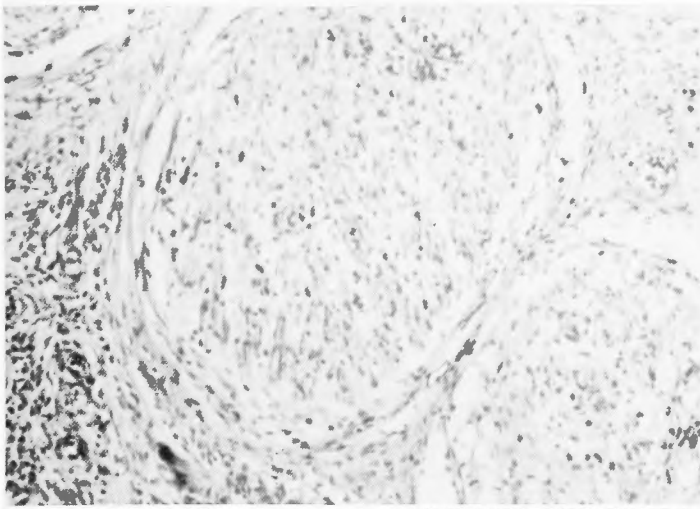
Relatively marked reactions.

$\times 350$

**Fig. 23**

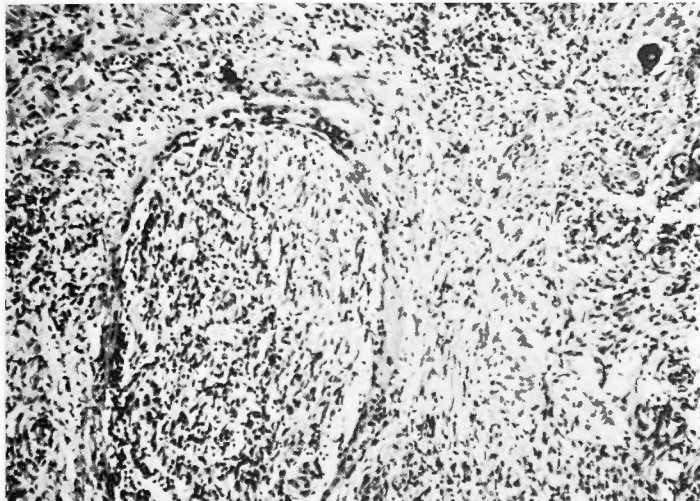
Local Application of Prednisolone ; 6 weeks.

Showing proliferation of fibrous tissues within the graft.  $\times 350$



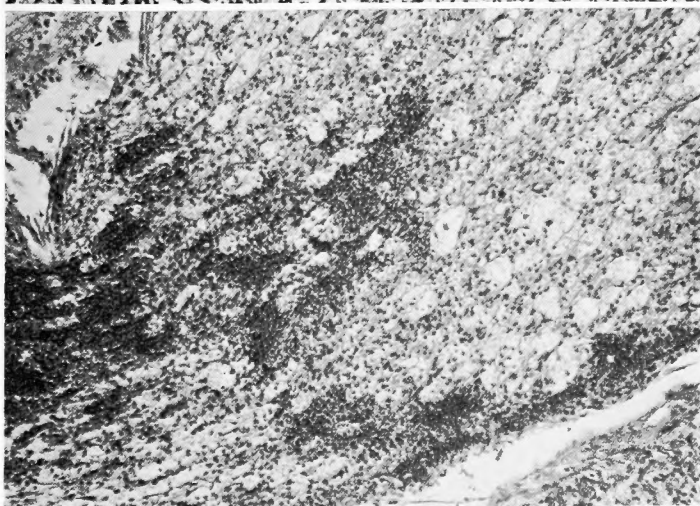
**Fig. 24**

Local Application of Cortisone  
Acetate ; 2 weeks.  
Marked cellular and fibroblastic  
invasions. × 350



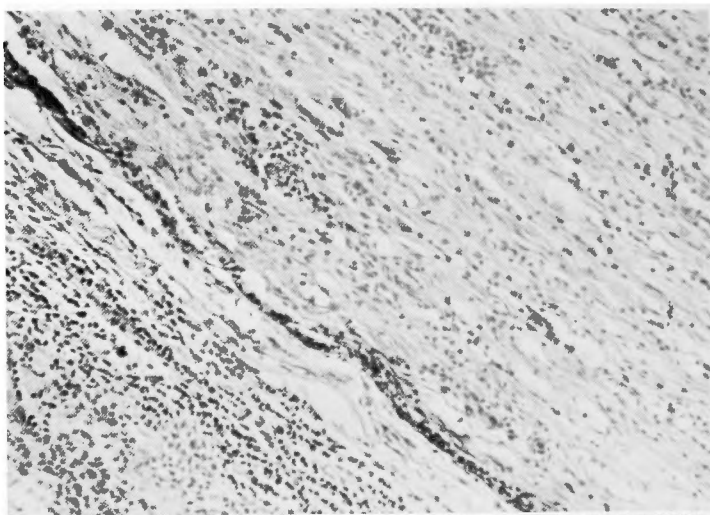
**Fig. 25**

Local Application of Cortisone  
Acetate ; 4 weeks. × 350

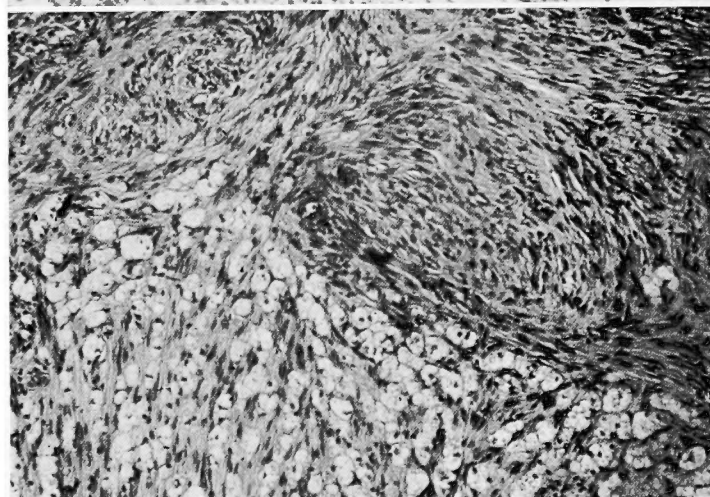


**Fig. 26**

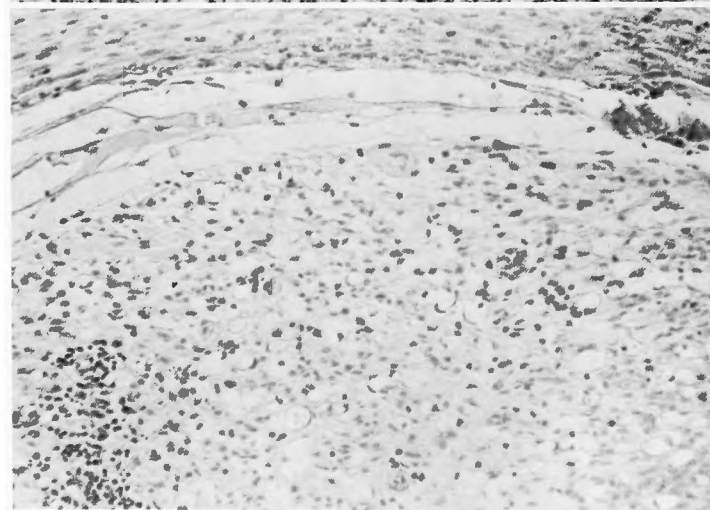
6-Methyl-Mercaptopurine Ad-  
ministration ; 2 weeks.  
Marked bleeding within the  
graft. × 350



**Fig. 27**  
6-Methyl-Mercaptopurine Administration ; 4 weeks.  $\times 350$

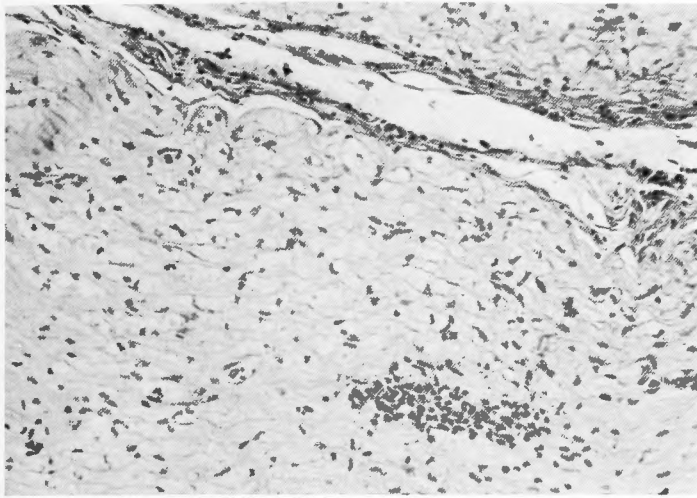


**Fig. 28**  
6-Methyl-Mercaptopurine Administration ; 6 weeks.  $\times 350$



**Fig. 29**  
Actinomycin C Administration ; 2 weeks.  
Moderate reactions are recognized.  $\times 350$

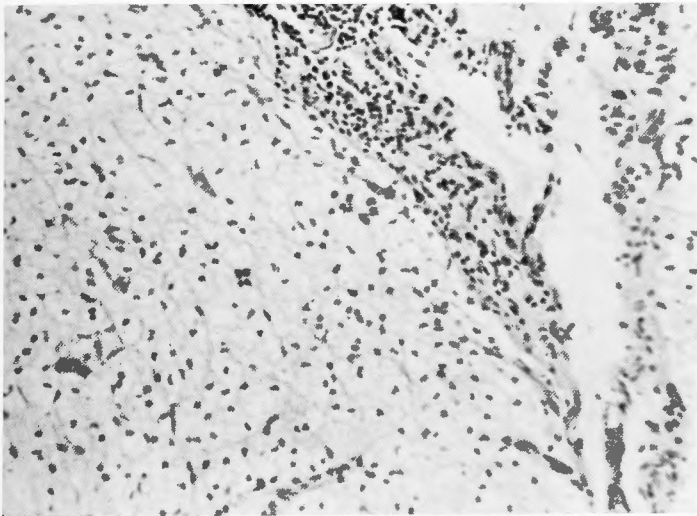




**Fig. 30**

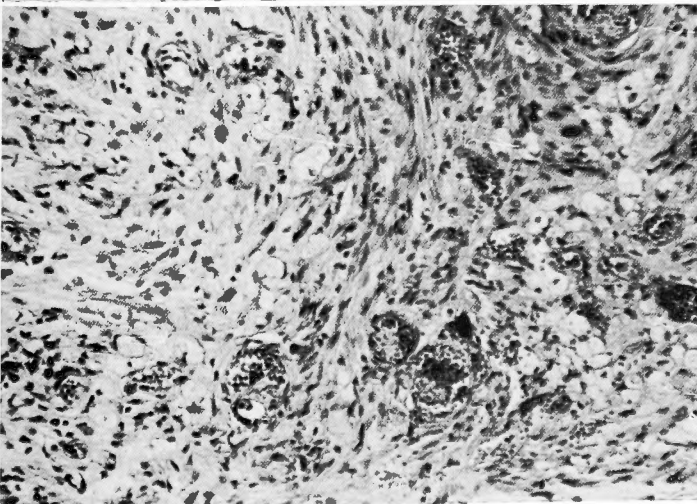
Actinomycin C Administration ;  
4 weeks.

Internal architectures are main-  
tained.  $\times 350$



**Fig. 31**

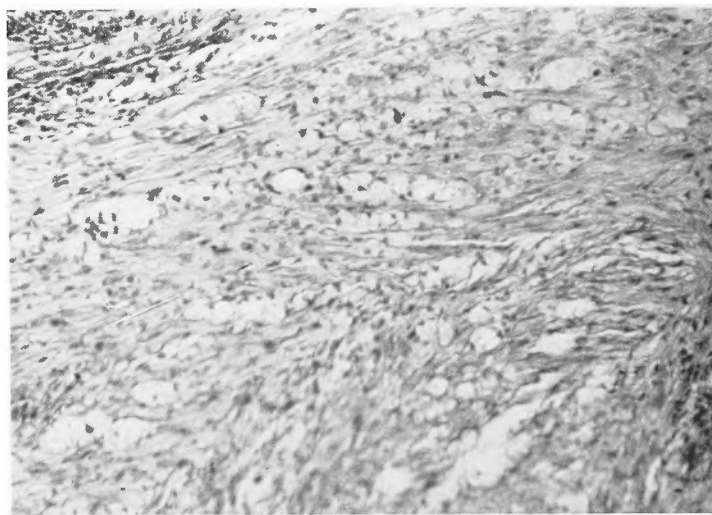
Actinomycin C Administration ;  
6 weeks.  $\times 350$



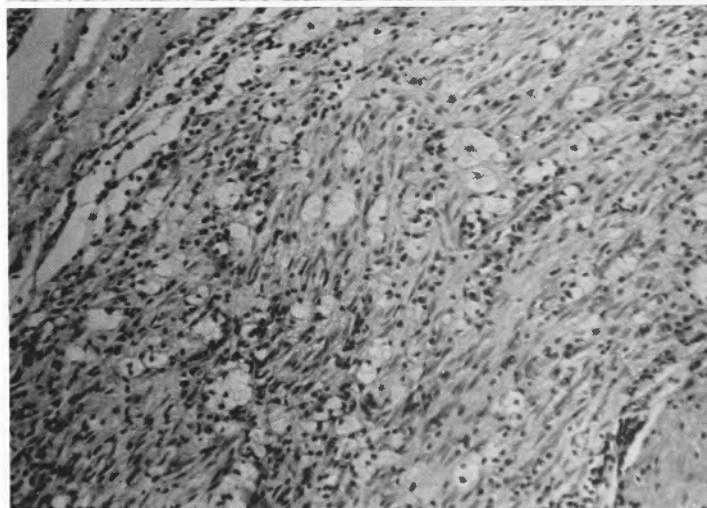
**Fig. 32**

Methotrexate Administration ;  
2 weeks.

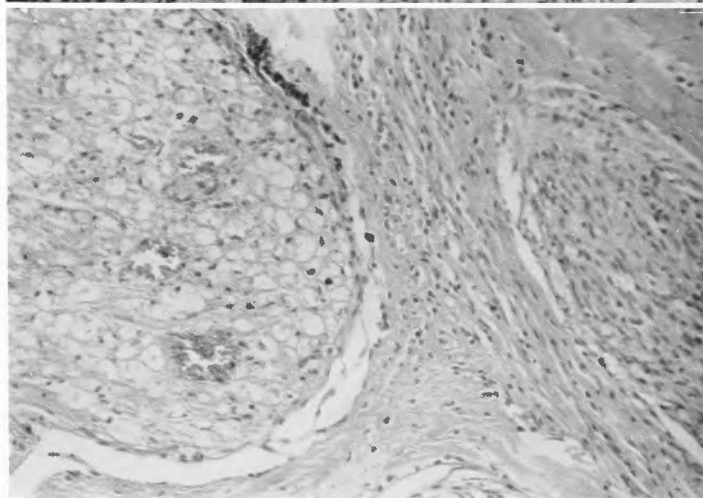
Capillary proliferations and fibro-  
blasts within the graft.  $\times 350$



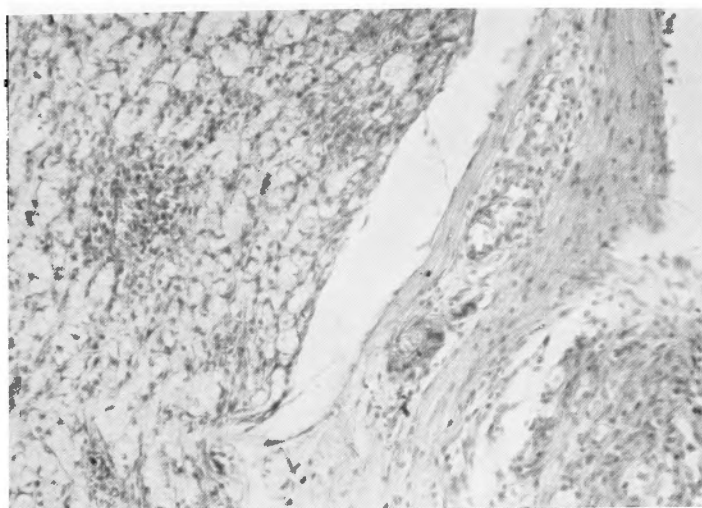
**Fig. 33**  
Methotrexate Administration ; 4  
weeks. × 350



**Fig. 34**  
Methotrexate Administration ; 6  
weeks. × 350

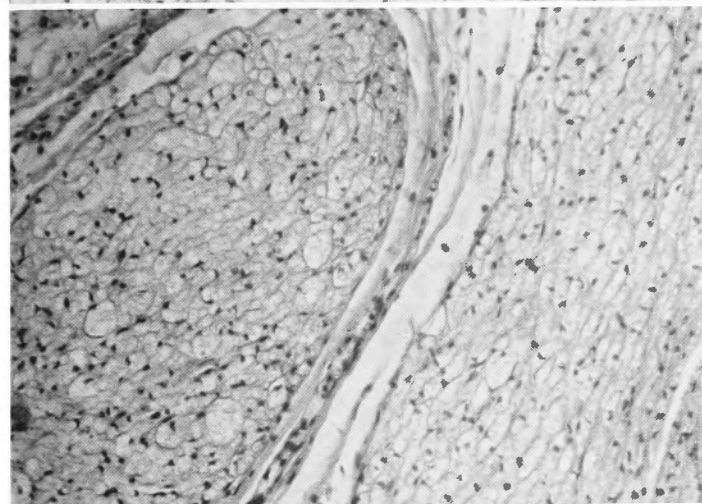


**Fig. 35**  
Predonisolone (4 mg/kg) Ad-  
ministration ; 2 weeks.  
Reactions are moderately depress-  
ed. × 350



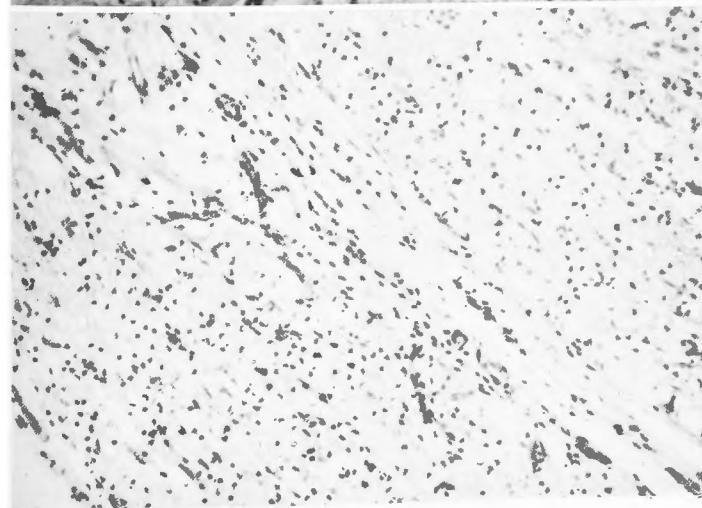
**Fig. 36**

Prednisolone (0.4mg/kg) Administration ; 2 weeks.  $\times 350$



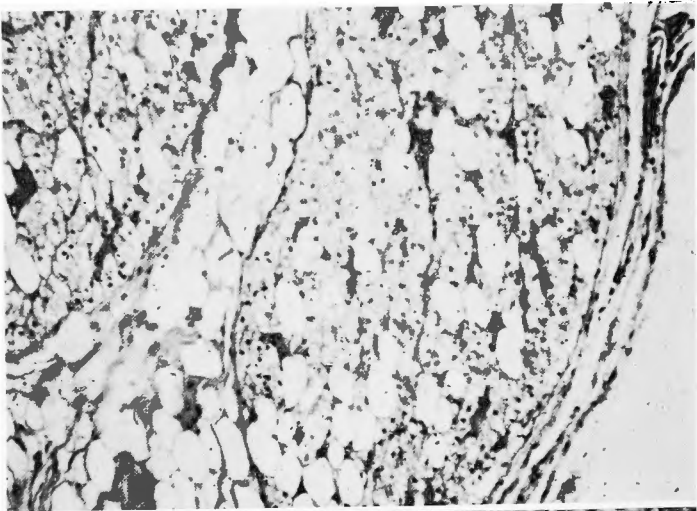
**Fig. 37**

Irradiation  $10 \times 10^5$  rep ;  
2 weeks.  
Reactions are minimum.  $\times 350$

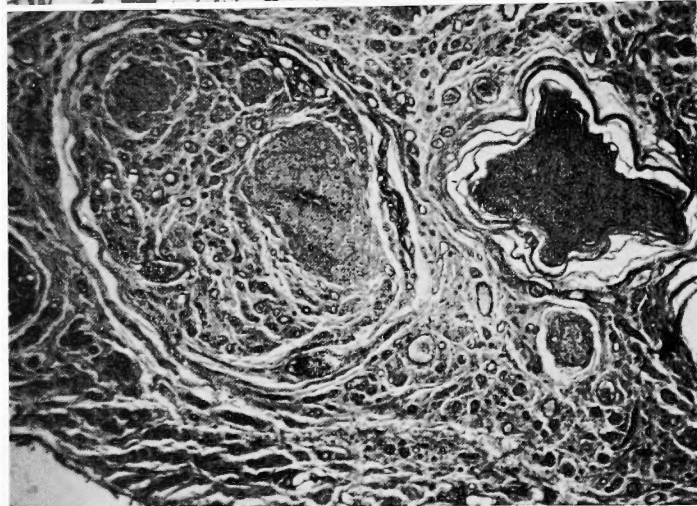


**Fig. 38**

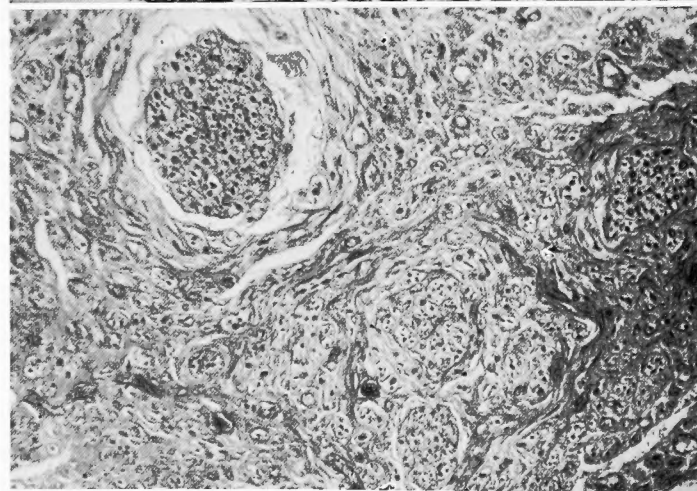
Irradiation  $10 \times 10^5$  rep ;  
4 weeks.  $\times 350$



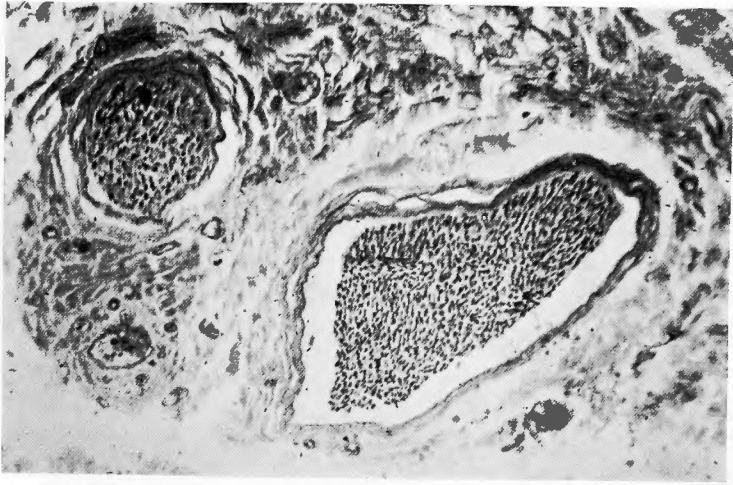
**Fig. 39**  
Irradiation  $15 \times 10^5$  rep ;  
6 weeks. × 350



**Fig. 40-1**  
Dog, Tubulation Method. 203  
days after operation. Upper  
junction. × 140 Holmes' stain.



**Fig. 40-2**  
Graft × 350



**Fig. 40-3** Distal Stump × 350